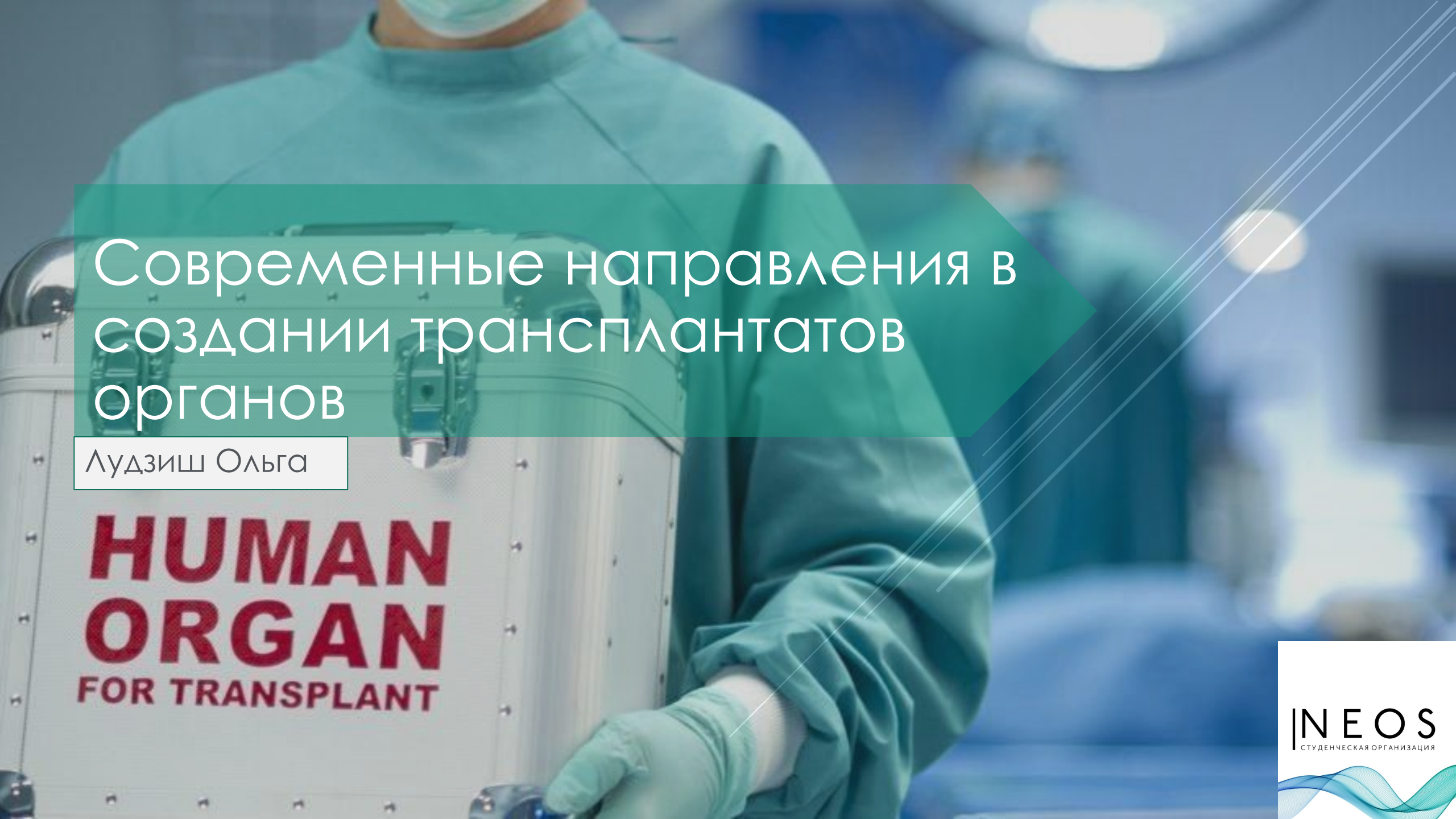


Современные направления в создании трансплантатов органов

Лудзиш Ольга

INEOS
СТУДЕНЧЕСКАЯ ОРГАНИЗАЦИЯ

ЗАЧЕМ ЧТО-ТО МЕНЯТЬ?

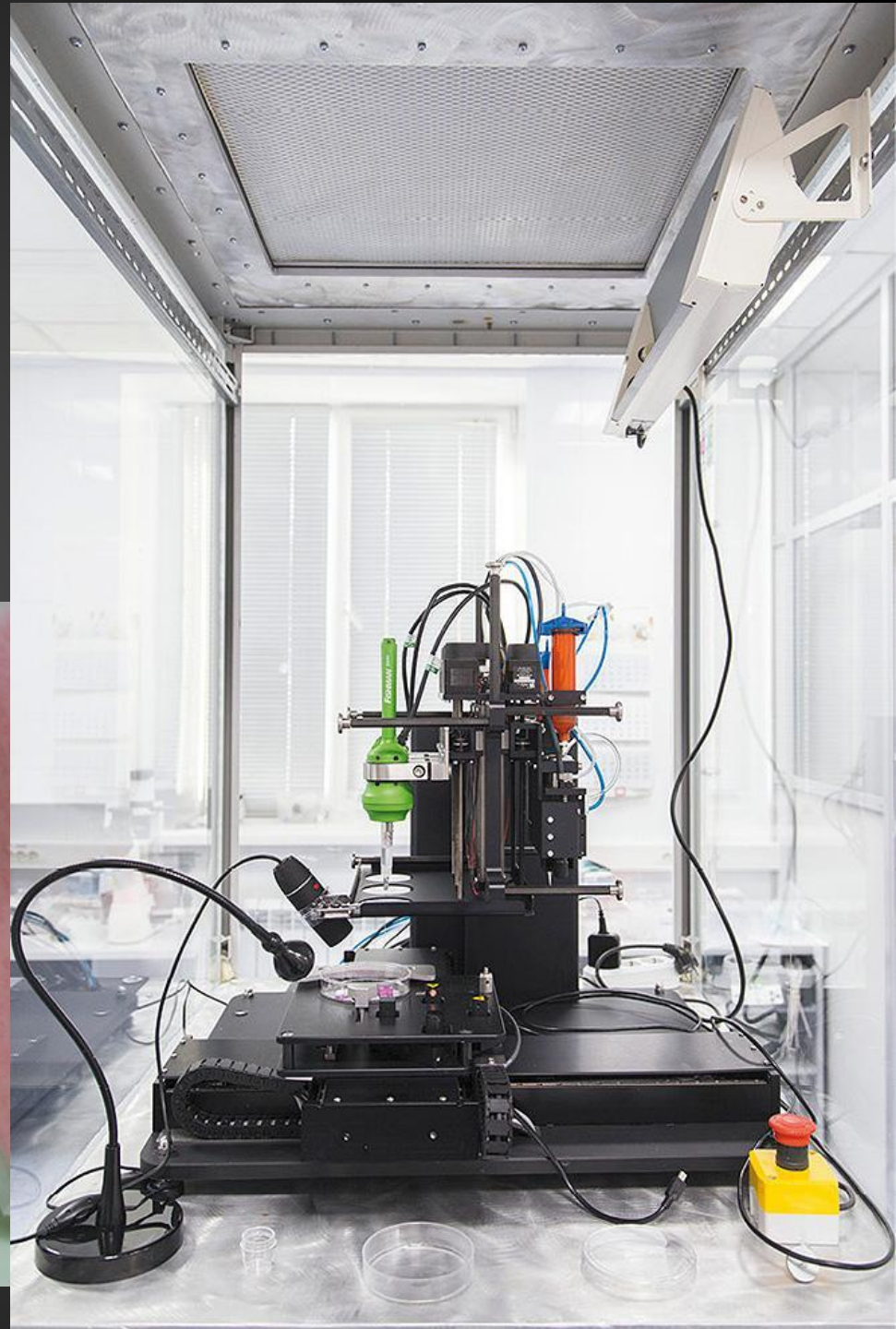
1. Забор органа реципиента
2. Определение момента смерти реципиента (Надежность диагностики смерти)
3. Сложность доставки органов
4. Отторжение трансплантата, Иммунологическая несовместимость
5. Нехватка органов
6. Распределение уже имеющихся органов и тканей реципиента

КСЕНОТРАНСПЛАНТАЦИЯ

- **ксенотрансплантация цельного органа -** исходный орган животного, например почка или печень, пересаживается человеку;
- **ксенотрансплантация клеток и тканей -** трансплантация тканей или клеток животного происхождения без какой бы то ни было хирургической связи кровеносных сосудов животного с кровеносными сосудами реципиента;
- **экстракорпоральная перфузия -** кровь человека циркулирует вне человеческого организма через орган животного происхождения, например печень или почку, или через биологический искусственный орган, созданный посредством культивирования животных клеток на искусственной матрице;
- **воздействие на живой материал животного происхождения -** физиологические жидкости, клетки, ткани или органы человеческого организма удаляются из организма, вводятся в контакт с клетками, тканями или органами животного и затем снова пересаживаются в организм человека.

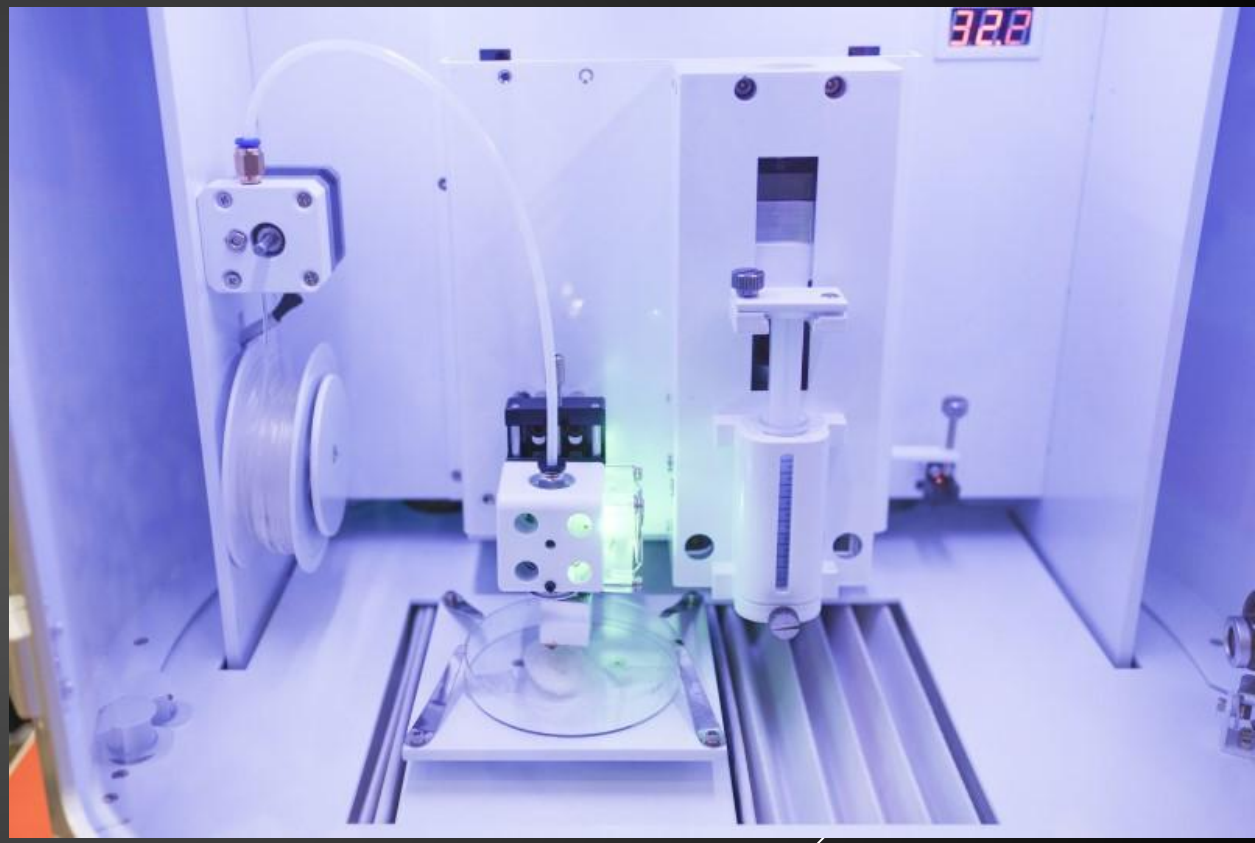
3D-БИОПРИНТИНГ

- **3D-биопринтинг** — технология создания объёмных моделей на клеточной основе с использованием 3D-печати, при которой сохраняются функции и жизнеспособность клеток



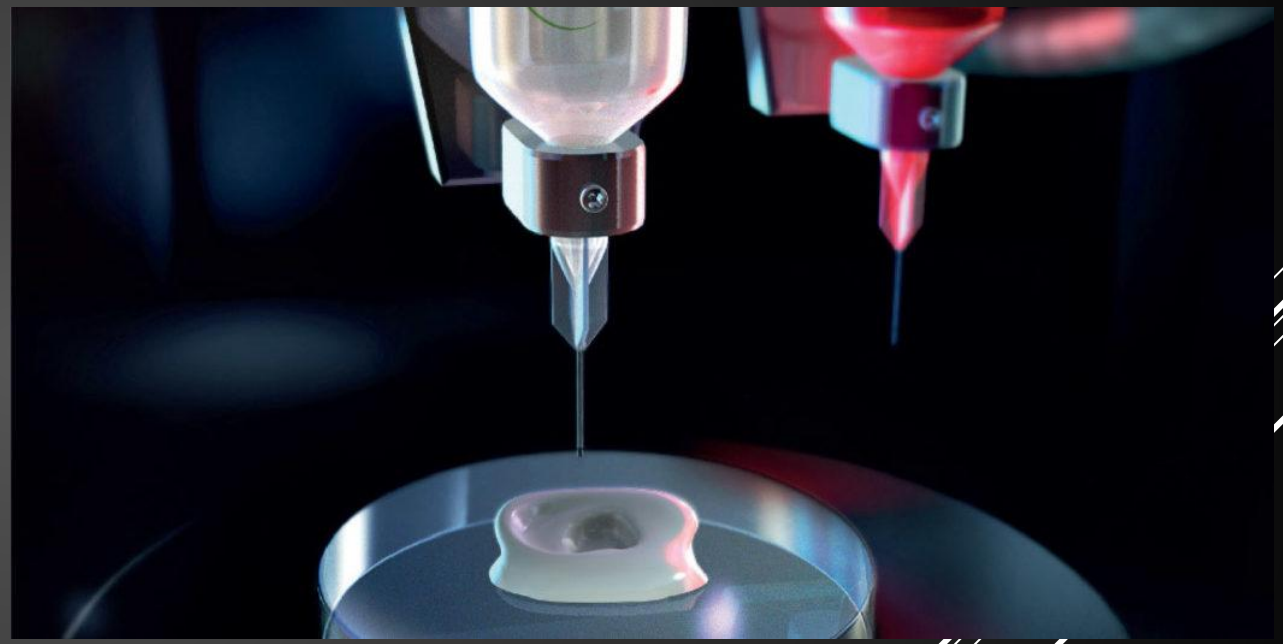
СТРУЙНЫЕ

- **Струйные -** хранят биологический материал в картриджах, который распыляется на гидрогелевую подложку, как краска на бумагу.
- Недостатки — неточный выброс капель и закупорка распыляющего сопла с возможной гибелью клеточного материала. Струйная печать органов на принтере не подходит для вязких материалов, поскольку они не распыляются.
- Область применения ограничивается восстановлением костной, хрящевой ткани, мышц и кожи.
- Достоинства — дешевизна и массовая воспроизводимость.



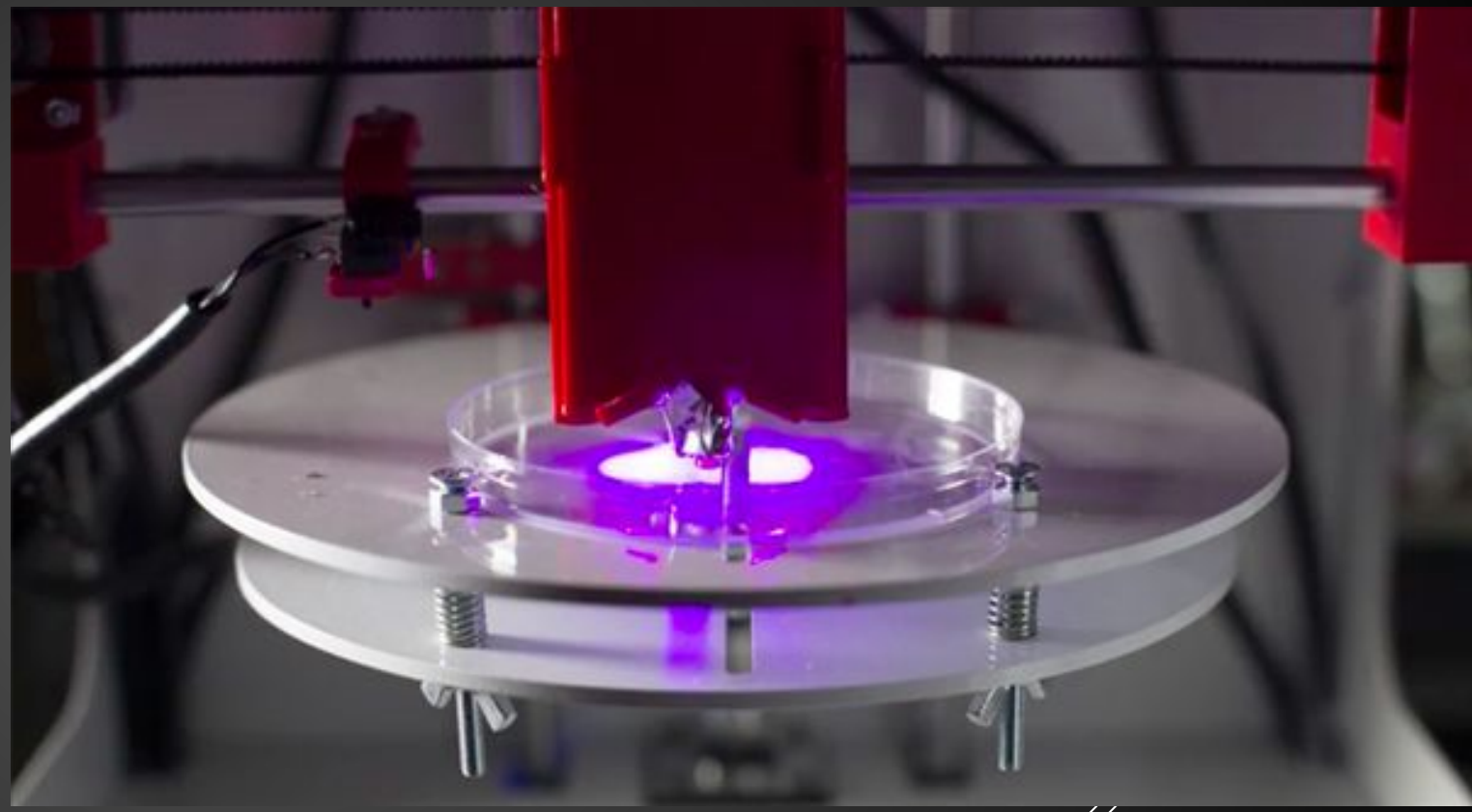
МИКРОЭКСТРУЗИОННЫЕ

- Для печати используется пневматическая подача материала в подвижную головку-экструдер, которая укладывает клетки. Чем больше головок, тем точнее и быстрее работает принтер.
- Недостатки — чем плотнее укладываются клетки, тем меньше их выживает. При сопоставимой плотности укладки, от микроэкструзионной печати погибает больше клеток, чем при струйной печати.
- Достоинства — подходит для 3D печати органов высокой плотности, тонкая настройка подачи материала за счет регулирования давления.



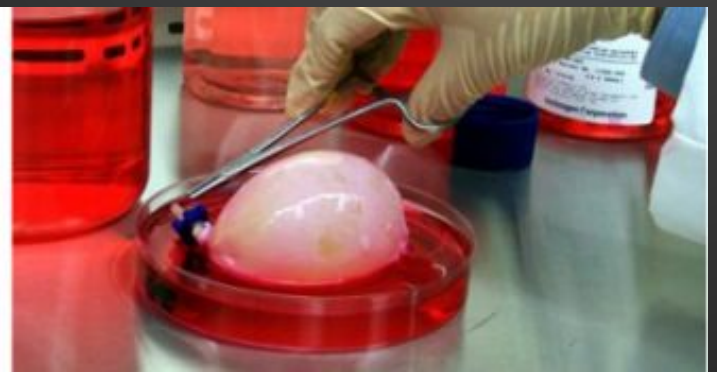
ЛАЗЕРНЫЕ

- Используют лазер для нагревания стекла с жидким клеточным субстратом. В точке концентрации луча создается избыточное давление, которое выталкивает клетки на нужный участок подложки. Между лучом и стеклом с биоматериалом размещается отражающий элемент, которая снижает мощность луча.
- Недостатки — повышенное содержание металла в клетках от испарения отражающего элемента. Цена.
- Достоинства — контролируемая вплоть до отдельных клеток, укладка биоматериала.



Как это работает?

1. Забор жировой ткани от пациента, из неё методом последовательной обработки клеток получаются необходимые конструкционные элементы
2. Создаётся трёхмерная модель органа, конвертируется в CAD-файл, затем этот отдаётся 3D-принтеру, который умеет печатать нашими клетками и понимает в какую точку трехмерного пространства ему нужно «уложить» конкретный тип клетки
3. На выходе – тканевый конструкт, который надо поместить в специальную среду, пока не начались проблемы с гипоксией
4. В биорекаторе тканевый конструкт «созревает». Потом орган можно «трансплантировать» пациенту.



Очевидные сложные моменты

Получение модели органа. Нужно где-то взять схему. Это довольно просто.

Получение самих клеток. Очевидно, нам нужен материал для печати органа.

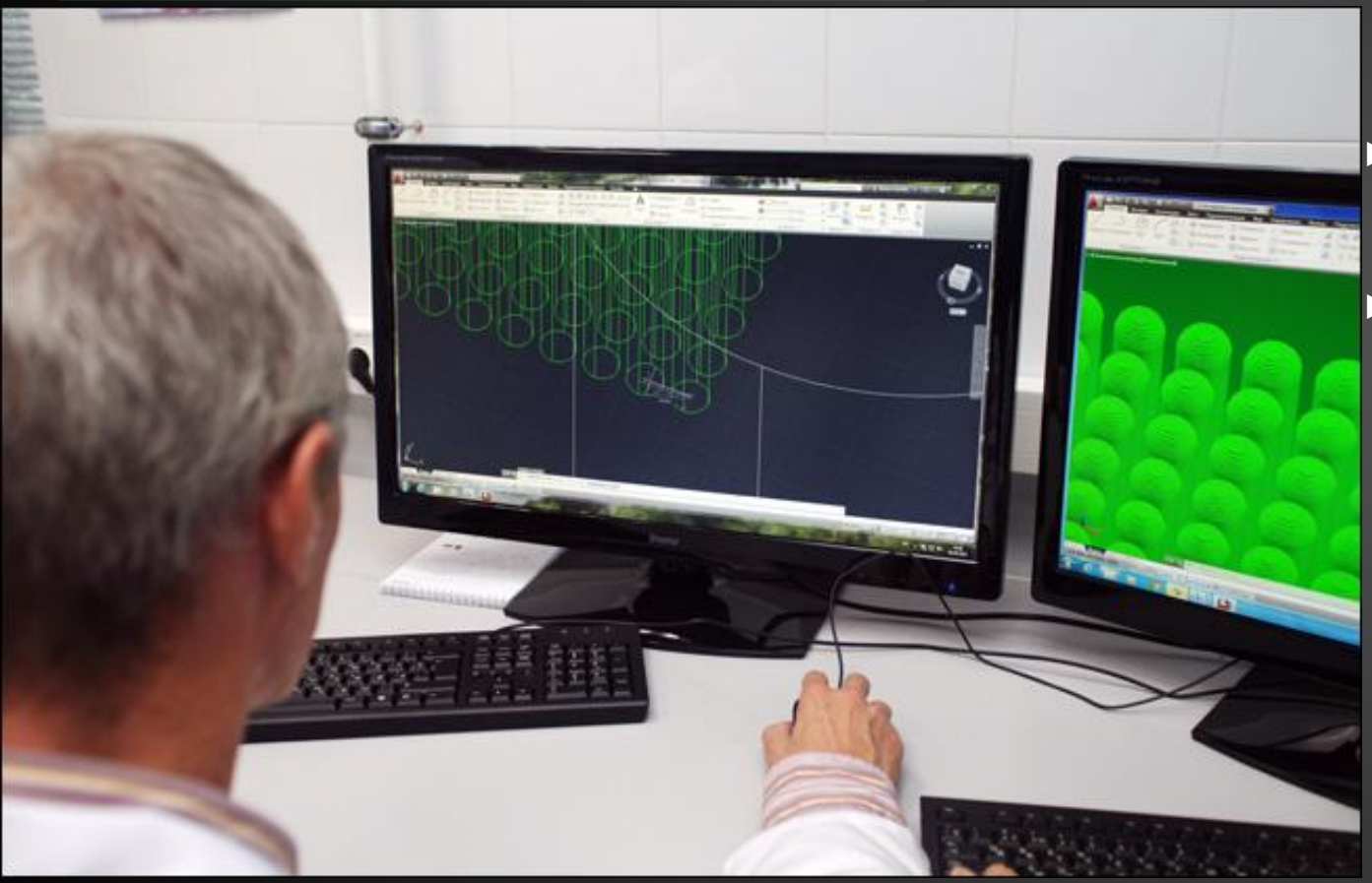
Сборка принтера, чтобы клетками можно было печатать (проблемы с образованием структуры органа).

Гипоксия (отсутствие кислорода) во время создания органа.

Реализации питания органа и его созревание до готовности.

Итак, 3D-принтер – это только часть успеха фабрикации органов: его нужно обеспечить чертежом, материалом, а затем полученную модель органа из клеток ещё вырастить

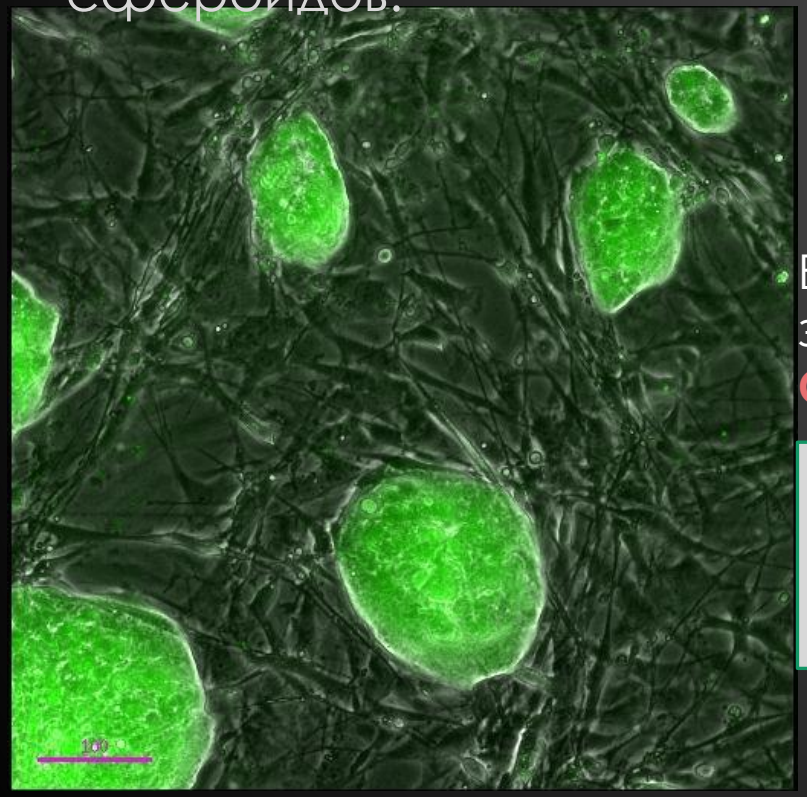
МОДЕЛЬ ОРГАНА

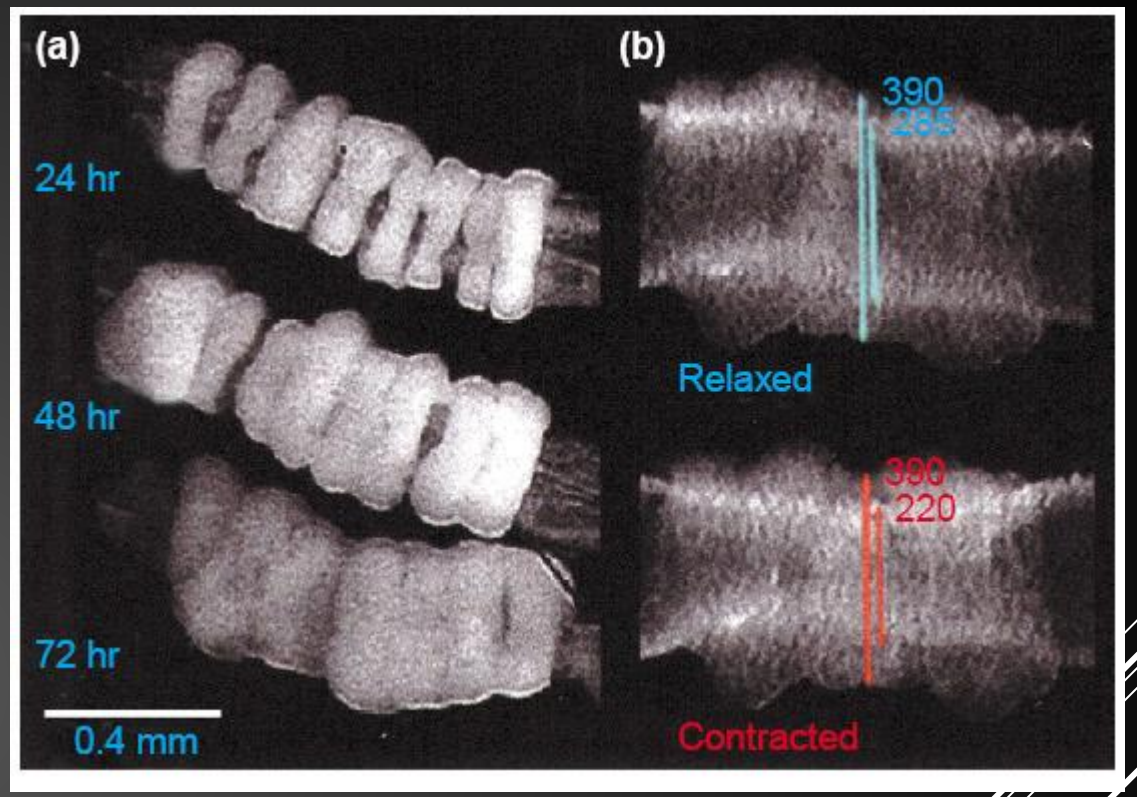


- Итак, берётся CAD-файл (сейчас — формат stl) с моделью органа.
- Проще всего получить модель, сделав трёхмерное сканирование самого пациента, а затем доработав данные на компьютере.

МАТЕРИАЛ

Берётся материал – тканевые сфероиды, которыми будет идти запечатка. В качестве основы используется гидрогель, выполняющий функции соединительной структуры. Затем 3D-принтер печатает орган из этих тканевых сфероидов.

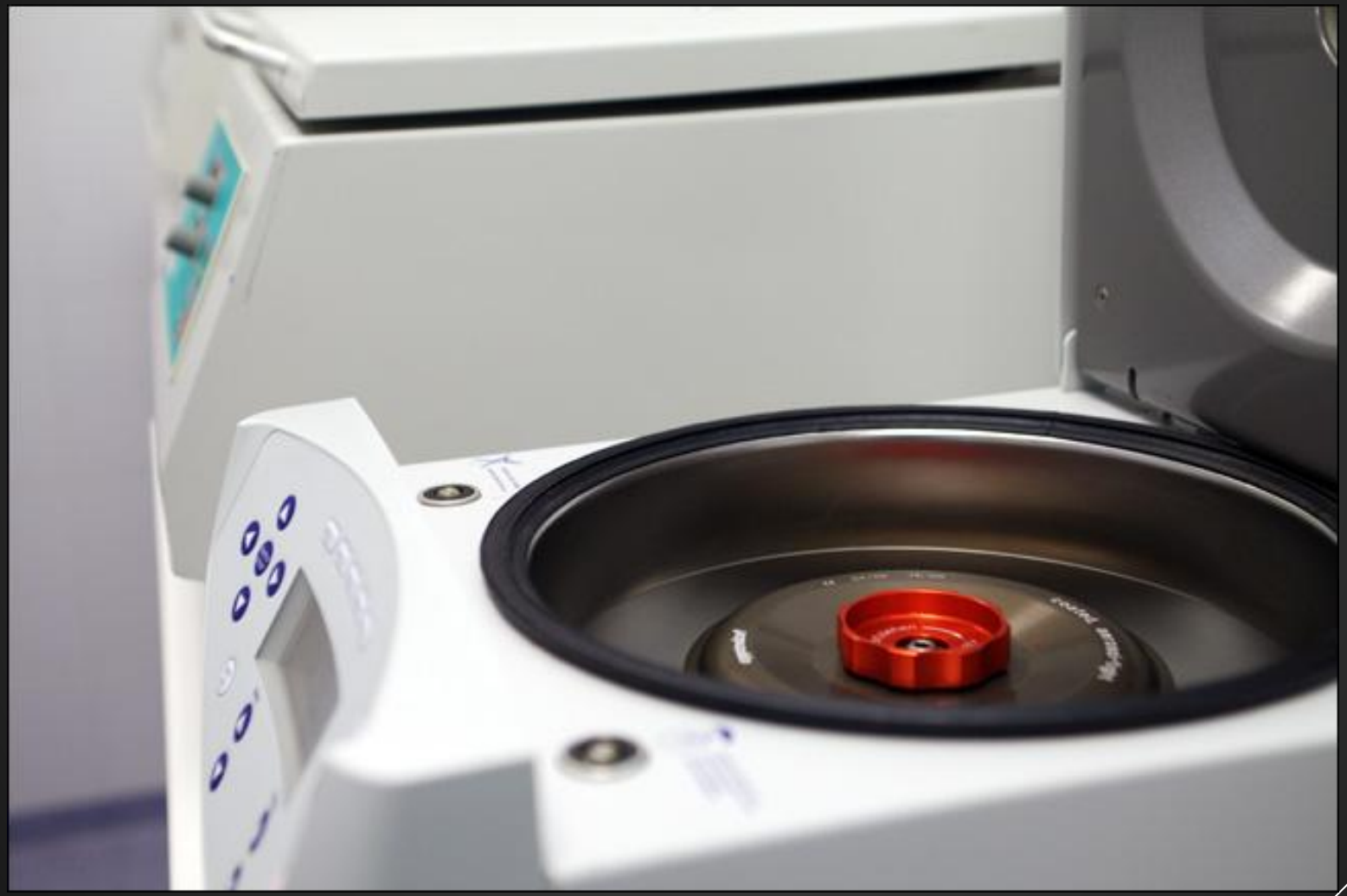




В углубление помещается клеточная суспензия, затем клетки сращиваются, и образуется шарик – **СФЕРОИД.**

клетки в сфероидах имеют более высокую резистентность к стрессу, радиации и другим «неблагоприятным» факторам, что снижает вероятность изменения кариотипа этих клеток на этапе ex vivo

Центрифуга. Первый этап отделения материала из жировой ткани.

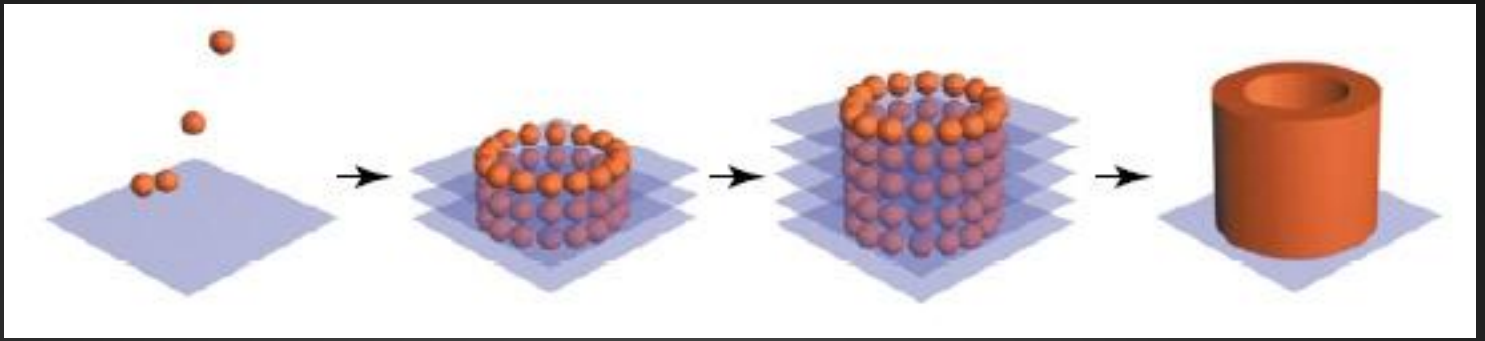


ОБРАБОТКА КОНСТРУКЦИОННЫХ БЛОКОВ

- Следующая проблема – клетки в картридже горят желанием срастись. Тканевые сфероиды должны быть изолированы друг от друга, иначе они начнут срастаться раньше срока. Их нужно инкапсулировать, и для этого используется гиалуроновая кислота. В последствии она быстро «уходит» после печати.

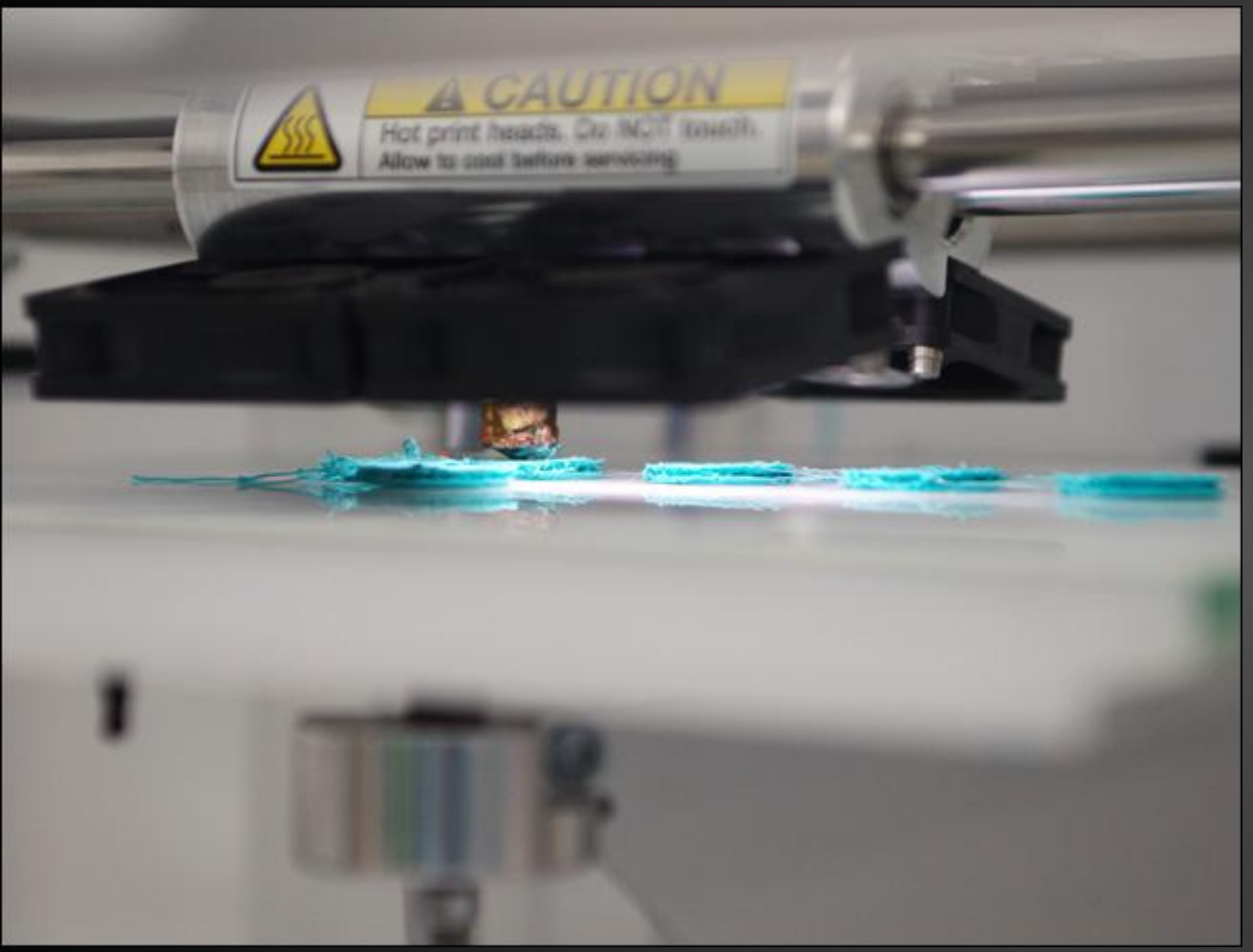
При печати температура повышается до 36,6°, сфероиды рассеиваются и клетки постепенно сами формируют природный каркас

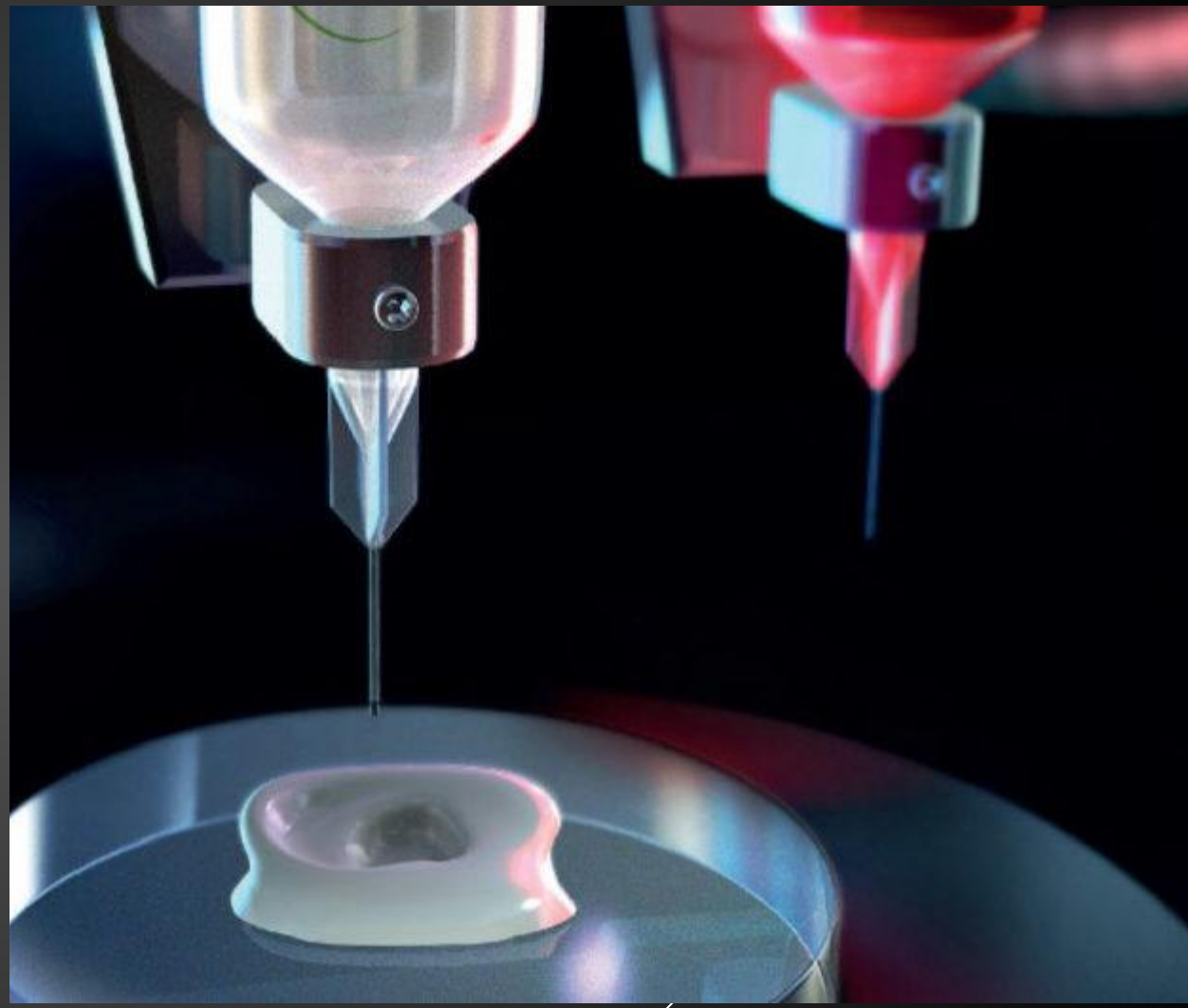
ПЕЧАТЬ

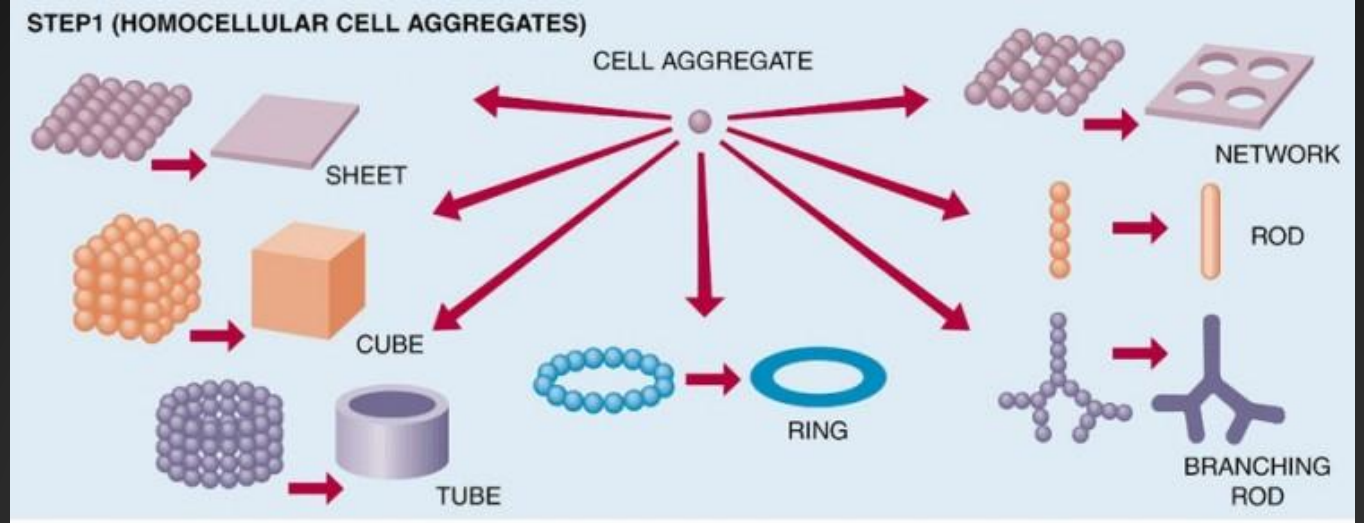


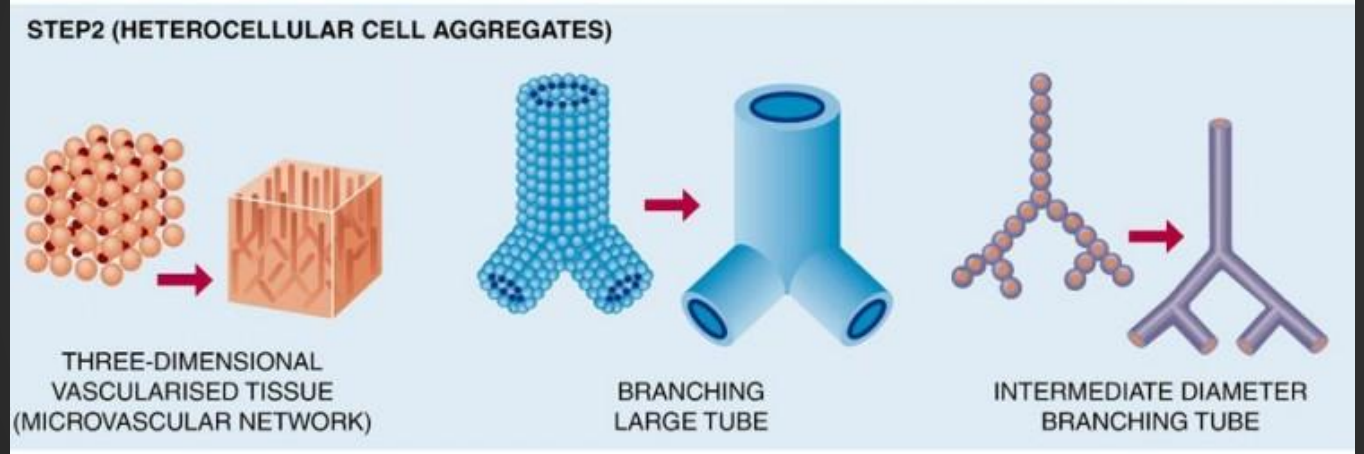
- Можно последовательно наносить материал ряд за рядом.
- Затем фибрин легко деградирует в среде и вымывается при перфузии, и остаётся только нужная ткань.

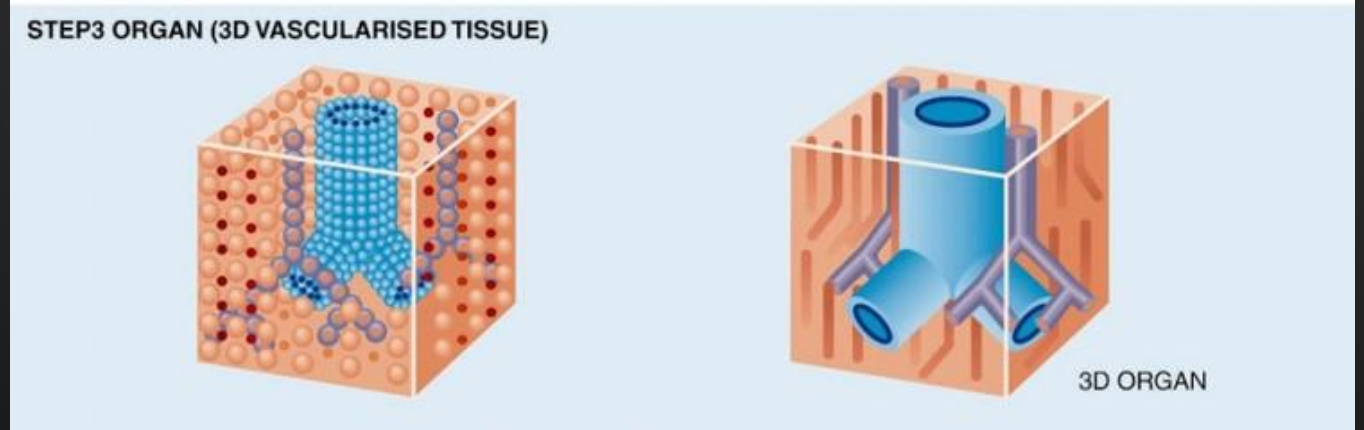
Принтер печатает слоями по 250 микрометров: это баланс между оптимальным размером блока и риском гипоксии в сфероиде


CAUTION
Hot print heads. Do NOT touch.
Allow to cool before servicing




STEP1 (HOMOCELLULAR CELL AGGREGATES)
CELL AGGREGATE
SHEET
NETWORK
ROD
CUBE
RING
TUBE
BRANCHING ROD


STEP2 (HETEROCELLULAR CELL AGGREGATES)
THREE-DIMENSIONAL VASCULARISED TISSUE (MICROVASCULAR NETWORK)
BRANCHING LARGE TUBE
INTERMEDIATE DIAMETER BRANCHING TUBE


STEP3 ORGAN (3D VASCULARISED TISSUE)
3D ORGAN

ДЕНЕЖНАЯ СТОРОНА ВОПРОСА

Средняя цена биопринтера — четверть миллиона долларов, но доступны и бюджетные модели ценой до $10 000. Большинство принтеров, доступных для покупки — экструзионного типа и работают с каркасной печатью.

- 3D Bioplotter — $200,000. Envision TEC, Германия.
- Novogen MMX — $250,00. Organovo, США.
- Biobot 1 — $10 000. Biobots, США.
- 3DDiscovery — $200,000. RegenHU & Biofactory, Швейцария.
- BioAssemblyBot — $160 000. Advanced Solutions, Нидерланды.
- **Поддержка больного аппаратами жизнеобеспечения стоит около $75 тыс. в год. За 10 лет, больной потратит $1 млн. Принтер стоит $200, 000 и примерно столько же — операция. Учитывая, сколько стоит печать органов, операция с применением 3D-биопринтинга удешевляется на 50%.**

Челюсть 83-летней женщины из Бельгии поразил остеомиелит. Восстановление стоило дороже и продлилось бы дольше, чем удаление больной челюсти и имплантация распечатанной новой. Команда врачей под руководством профессора Жюля Пукана выполнила операцию и женщина могла говорить сразу после операции. Развитие биопечати приведёт к медицинской практике, где проще удалить поврежденную конечность и вырастить новую, чем лечить травмы, которые сейчас лечат без ампутации.

ВЫВОДЫ

- Напечатанные органы лучше протезов и трансплантированных частей тела. Их возможности идентичны родным и они не отторгаются иммунной системой, если созданы из ДНК пациента.
- Биопринтинг сократит время на получение нужного органа и сохранит жизнь больным, которым нужна незамедлительная пересадка.